



DEUTSCHES
PATENTAMT

②① Aktenzeichen: P 34 34 082.3
②② Anmeldetag: 17. 9. 84
④③ Offenlegungstag: 11. 7. 85

DE 3434082 A 1

③⑩ Unionspriorität: ③② ③③ ③①
15.12.83 US 561 818

⑦① Anmelder:
Biomatrix Inc., Ridgefield, N.J., US

⑦④ Vertreter:
Zipse, E., Dipl.-Phys., 7570 Baden-Baden; Habersack,
H., Dipl.-Ing., Pat.-Anw., 8000 München

⑦② Erfinder:
Balazs, Endre A., Riverdale, N.Y., US; Leshchiner,
Adolf, Brooklyn, N.Y., US

Behördeneigentum

⑤④ Wasserunlösliche Zubereitung von Hyaluronsäure

Wasserunlösliche, bioverträgliche Hyaluronsäure-Zubereitungen werden dadurch hergestellt, daß Hyaluronsäure einer Behandlung mit einem Vernetzungsmittel unterzogen wird.

DE 3434082 A 1

Biomatrix, Inc.

USA-Ridgefield, New Jersey 07657

PM 03

16. Sept. 1984

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer wasserunlös-
lichen Hyaluronsäure-Zubereitung, dadurch gekennzeich-
5 net, daß Hyaluronsäure in Form eines Pulvers, eines
Films oder Gels einer Behandlung mit einem Vernetzungs-
mittel unterzogen wird, das aus der Gruppe ausgewählt
wird, die aus Formaldehyd, Dimethylolharnstoff,
Dimethyloläthylenharnstoff, Äthylenoxid, einem Poly-
10 aziridin, einem Polyisocyanat und Divinylsulfon besteht.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeich-
net, daß das Vernetzungsmittel Formaldehyd ist und daß
15 die Behandlung in einem wäßrigen Medium bei Rücklauf-
bzw. Rektifikationstemperatur bewirkt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeich-
net, daß das Vernetzungsmittel ein Polyaziridin ist
und daß die Behandlung unter trockenen Bedingungen bei
20 Umgebungstemperatur bewirkt wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Vernetzungsmittel ein Polyisocyanat ist und daß die Behandlung in Aceton bei Rücklauf- bzw. Rektifikationstemperatur bewirkt wird.

5

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Vernetzungsmittel Dimethyloläthylenharnstoff ist und daß die Behandlung bei etwa 110 °C bewirkt wird.

10

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Vernetzungsmittel Divinylsulfon ist und daß die Behandlung bei etwa 60 bis 65 °C bewirkt wird.

15

7. Produkt, dadurch gekennzeichnet, daß es nach dem Verfahren gemäß Anspruch 1 hergestellt ist.

Wasserunlösliche Zubereitung von Hyaluronsäure

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf biokompatible, wasserunlösliche Zubereitungen der Hyaluronsäure ("HA"), welche - wegen deren Biokompatibilität - die Möglichkeit für diese schafft, bei zahlreichen In-vivo-Anwendungen, beispielsweise verschiedenen prothetischen Vorrichtungen und Mittel, einschließlich künstlichen Herzklappen, vaskulären Transplantaten etc., verwendet zu werden. Die wasserunlösliche (oder vernetzte) HA kann auch benutzt werden, um verschiedene polymere Artikel zu modifizieren, die ebenfalls in zahlreichen In-vivo-Anwendungen verwendet werden können.

Hyaluronsäure ist eine bekannte, natürlich vorkommende Substanz, welche viele Anwendungen in Medizin und Biologie aufweist. Es sei zum Beispiel auf die US-Patentschrift 4 272 522 und die darin angegebenen Veröffentlichungen hingewiesen.

Vernetzte Gele der Hyaluronsäure sind bekannt; sie wurden durch Laurent et al in Acta Chem. Scand. 18 (1964) No. 1, Seiten 274 bis 275, beschrieben.

5 Die vorliegende Erfindung ist auf wasserunlösliche Zubereitungen der Hyaluronsäure gerichtet, die biokompatibel sind. Wegen ihrer Biokompatibilität können sie sowohl bei zahlreichen In-vivo-Anwendungen per se als auch in Kombination mit verschiedenen polymeren Materialien verwendet werden, welche durch den Einschluß derartiger wasserunlöslichen Zubereitungen darin modifiziert wurden.

15 Genauer ausgedrückt, ist die Erfindung auf wasserunlösliche Zubereitungen von Hyaluronsäure, einschließlich der folgenden Arten von Materialien, gerichtet:

- 1.) Vernetztes Hyaluronsäure-Pulver;
- 2.) Vernetzter Hyaluronsäure-Film bzw. vernetzte Hyaluronsäure-Membrane;
- 20 3.) Vernetztes Gel der Hyaluronsäure;
- 4.) Vernetzter Hyaluronsäure-Film, durch ein Polyäthylen-Terephthalat -Gewirke verstärkt, und
- 5.) Partikuläre Materialien, mit vernetzter Hyaluronsäure bedeckt.
- 25

Die Vernetzungsmittel, die verwendet werden können, um die raschen Zubereitungen (Instant-Präparationen) herzustellen, schließen ein:

- 30 1.) Formaldehyd;
- 2.) Dimethylolharnstoff;
- 3.) Dimethyloläthylenharnstoff;
- 4.) Polyaziridinylverbindung;
- 35 5.) Äthylenoxid;

- 6.) Polyisocyanat und
7.) Divinylsulfon.

Die folgenden Beispiele, (bei welchen alle angegebenen Teile gewichtsmäßig angegeben sind, wenn nicht anders spezifiziert), veranschaulichen die verschiedenen Ausführungsformen der Erfindung, ohne jedoch eine Einschränkung derselben darzustellen, wobei die Erfindung allein durch die Patentansprüche umrissen ist.

Beispiel 1

Einem Wasser-Aceton-Gemisch wurde eine 37 gewichtsprozentige Wasserlösung von Formaldehyd und konzentrierter Salzsäure beigemischt. Das erhaltene Gemisch bestand aus folgenden Zusammensetzungen (Gewichtsprozent): CH_2O , 0,27; HCl , 0,19; Wasser/Aceton-Verhältnis 1 : 28. Natriumhyaluronatpulver (0,5 g) wurde zum Rückfließen gebracht: 10 Minuten lang in 50 ml des Gemisches. Dann wurde das Pulver abgefiltert, mit einem Wasser/Aceton-Gemisch 1 : 3 sorgfältig gewaschen, dann mit Aceton und schließlich in einem Vakuumofen getrocknet. Das erhaltene Hyaluronsäurepulver war in Wasser unlöslich und enthielt 1,41 % kombiniertes CH_2O .

Beispiel 2

Das obige Beispiel wurde mit dem vernetzenden Gemisch der folgenden Zusammensetzung (Gewichtsprozent) wiederholt: CH_2O , 2,5; HCl , 0,38; Wasser/Aceton-Verhältnis 1 : 2. Der CH_2O -Gehalt des Produktes war 5,3 %.

Bei den Beispielen 1 und 2 wurde die Vernetzung eines Hyaluronsäurepulvers in Wasser-Aceton-Gemischen durchgeführt. Durch Änderung des Wasser/Aceton-Verhält-

nisses und der CH_2O -Konzentration ist es möglich, das Quellungsverhältnis des Produktes zu steuern und zu regeln. Somit war das Quellungsverhältnis 178 % für das Produkt des Beispiels 1 und 230 % für das Produkt des Beispiels 2. Das Quellungsverhältnis kann dadurch reduziert werden, daß der Betrag des Acetons in dem Gemisch und die CH_2O -Konzentration erhöht werden.

Die folgenden Beispiele veranschaulichen die Verwendung einer Polyaziridin-Verbindung als Vernetzungsmittel. Diese Verbindung des Polyaziridin-Typs vernetzt Hyaluronsäure unter Trockenbedingungen und bei Umgebungstemperatur, was bei Hyaluronsäure sehr wichtig ist, da es sich bei letzterer um ein wärmeempfindliches Polymer handelt.

Beispiel 3

113,0 gm einer Hyaluronsäurelösung in Wasser (Konzentration 14,2 mg/ml) wurden 0,42 g einer Polyaziridin-Verbindung - Cross-Linker CX-100 (Polyvinyl-Chemikalie) beigemischt. Das Molverhältnis des Vernetzungsmittels zu Hyaluronsäure war 0,5. Das Gemisch wurde in eine Glasplatte als eine 5 mm dicke Schicht gegossen und bei Raumtemperatur 2 Tage lang trocknen gelassen. Ein klarer Film aus vernetzter Hyaluronsäure wurde erhalten, der in Wasser nicht löslich war und ein Quellungsverhältnis in Wasser von 160 % hatte.

Beispiel 4

0,5 g eines trockenen Hyaluronsäurepulvers wurden mit 50 ml einer 1%igen Lösung von Cross-Linker CX-100 in Aceton vermischt, 5 Minuten lang gelassen und abgefiltert. Das Pulver wurde an der Luft 2 Stunden lang ge-

trocknet, dann mehrmals mit Wasser gewaschen und in einem Vakuumofen bei 40 °C 4 Stunden lang getrocknet. Das Quellungsverhältnis des vernetzten Pulvers in Wasser war 135 %.

5

Das folgende Beispiel veranschaulicht die Verwendung der Polyaziridin-Verbindung zur Erzielung vernetzter Hyaluronsäure mit einem hohen Grad an Quellung.

10

Beispiel 5

15

0,6 g festes Natriumhyaluronat wurde mit 9,2 g einer 0,6%igen Lösung, gewichtsmäßig, von Cross-Linker CX-100 in Wasser gemischt. Die erhaltene Lösung hatte ein Molverhältnis von CX-100 zu Natriumhyaluronat = 0,1. Der Natriumhyaluronatgehalt in der Lösung war 6,04 Gewichtsprozent. Der pH-Wert des erhaltenen sehr viskosen Gemisches wurde mit 2 % HCL auf 2,5 eingeregelt. Der sich ergebende Film war in Wasser leicht löslich. Der Film wurde bei 60 °C 30 Minuten lang erwärmt. Die Wärmebe-

20